



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS  
Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia

# Química Biológica

---

**GUÍA DE TRABAJOS TEÓRICO-PRÁCTICOS  
DE AULA**

**AÑO: 2017**

**LICENCIATURA EN NUTRICIÓN**

**Profesores:**

**Dra. Alicia Molina  
Dra. Ethel Larregle**

**Responsables de Trabajos Prácticos:**

**Dra . Rebeca Golini  
Dra. Yamila Carmona  
Dra. Lorena Navigatore Fonzo**



La presente guía de Trabajos Prácticos pertenece a la asignatura **Química Biológica**, la cual integra el Plan de Estudio de la Carrera de Licenciatura en Nutrición (Ord.11/09), corresponde al Primer Año y se dicta en el 2º Cuatrimestre, es obligatoria y posee un crédito horario de 90 hs. las cuales están distribuidas en clases teóricas y trabajos prácticos de aula. Durante el desarrollo de la misma el alumno adquirirá conocimientos sobre las transformaciones metabólicas, de degradación y biosíntesis que ocurren en la célula viva. Se realizarán trabajos teóricos-prácticos de aula, los cuales tienen por objeto complementar el desarrollo de cada uno de los temas teóricos, mediante problemas que el alumno deberá resolver con asistencia del docente responsable de los trabajos prácticos.

### **Reglamento de trabajos prácticos-Aprobación de parciales**

#### **ALUMNOS REGULARES**

1. Para el cursado de la asignatura el alumno deberá haber regularizado los cursos de: Anatomía y Fisiología I y Química Orgánica, ambas correspondientes al 1º año-1º Cuatrimestre.
2. Los alumnos conocerán, al comenzar el cuatrimestre, las fechas y los temas de los trabajos prácticos de aula, como así también las fechas de las Evaluaciones Parciales. Todo lo mencionado será informado en el avisador de la asignatura. Además, en la presente guía se encuentra adjunto el cronograma de actividades.
3. La fundamentación teórica de los trabajos prácticos se encontrará desarrollada en las clases teóricas así como en la guía de trabajos prácticos.
4. La bibliografía de cada uno de los temas a desarrollar estará a disposición de los alumnos en el Área de Química Biológica y se les dará a conocer la que se encuentra para consulta en Biblioteca.
5. Los conocimientos del alumno sobre la fundamentación teórica de los Trabajos Prácticos, serán evaluados antes, durante, o al final del desarrollo de los mismos.
6. Cada alumno llevará un cuaderno o carpeta en el que consignará los resultados y observaciones, a la manera de informe de los Trabajos Prácticos realizados. Al final de cada jornada el Jefe de Trabajos Prácticos podrá revisar y constatar los resultados obtenidos.
7. Para la aprobación de los Trabajos Prácticos el alumno deberá obtener resultados adecuados, responder satisfactoriamente las preguntas y cuestionarios de trabajos prácticos, y para ser considerado alumno regular en el curso deberá aprobar las Evaluaciones Parciales programadas y haber asistido al menos al 60% de las clases teóricas.
8. De acuerdo a la reglamentación vigente (Ord. N° 13/03 y su modificatoria Ord. N° 32/14) los alumnos deberán aprobar el cien por ciento (100%) de los Trabajos Prácticos y de las Evaluaciones Parciales sobre los mismos.



9. Los horarios de comienzo de los Trabajos Prácticos de Aula están pautados con suficiente antelación para que el alumno los conozca, por lo tanto deberá llegar en horario y no existirá tolerancia respecto a las tardanzas. En el caso que un alumno ingrese al Trabajo Práctico después del comienzo del mismo, implicará un ausente en el cuestionario y deberá recuperar dicho práctico.

10. Por las mismas reglamentaciones, los alumnos tendrán dos (2) oportunidades de recuperación de los Trabajos Prácticos de aula, debiendo aprobar en primera instancia el 75% (o su fracción menor) completando la aprobación del noventa por ciento (90%) en la primera recuperación. En la segunda recuperación deberá totalizar la aprobación del cien por ciento (100%) de los Trabajos Prácticos.

11. Para poder rendir cada evaluación parcial, los alumnos deberán tener aprobado el ciento por ciento (100%) de los trabajos prácticos cuyos contenidos se evalúan en la misma. Estas evaluaciones podrán ser escritas u orales y se aprobarán con el 65% del puntaje total.

12. Teniendo en cuenta la Ord. N° 32/14, para ser considerado como alumno regular se deberá aprobar el 100% de las Evaluaciones Parciales. Cada Parcial tendrá dos (2) recuperaciones. La primera recuperación se llevará a cabo en no menos de 48 horas de publicado el resultado del Parcial. La segunda recuperación se realizará al final del cuatrimestre. Ambas recuperaciones se aprobarán con el 75% del puntaje total.

#### **ALUMNOS CON PROMOCION SIN EXAMEN FINAL**

Este Curso de Química Biológica considera la posibilidad de aprobación por Promoción sin examen final. Para acceder a dicha Promoción los alumnos deberán:

a- En el momento de inscribirse al curso, cumplir con las exigencias de correlatividades establecidas en el plan de estudio para rendir el examen final de esta asignatura. Las materias que deberán estar rendidas al momento de la promoción son Anatomía y Fisiología I y Química Orgánica.

b- Cumplir con la asistencia al 80% de las clases teóricas.

c- Aprobar los trabajos prácticos de laboratorio y aula con igual exigencia que los alumnos regulares.

d- Aprobar cada evaluación parcial con el 70% de los temas de la condición regular más el 70% de los contenidos propios de la condición promocional.

e- Aprobar una evaluación adicional, de modalidad individual, oral o escrita, sobre los temas restantes para completar el programa teórico de la asignatura.

f- Los alumnos que opten por la Promoción sin examen final tendrán solo dos (2) recuperaciones para todas las evaluaciones Parciales. Estas recuperaciones se aprobarán con el 75% del puntaje total.

g- Pérdida de la promoción: en el caso de no satisfacerse algunas de las condiciones establecidas en este reglamento, el alumno será considerado regular si cumple con las respectivas condiciones de regularidad.

h- La nota final de la materia será igual al promedio de las calificaciones obtenidas en todas las evaluaciones.

**Equipo Docente**

Prof. Responsable: Dra. Alicia Molina

Prof. Colaborador: Dra. Ethel Larregle

J.T.P: -Responsable: Dra. Rebeca Golini

Dra. Yamila Carmona

Dra. Lorena Navigatore Fonzo

## LICENCIATURA EN NUTRICIÓN. SEGUNDO CUATRIMESTRE-2017

## CRONOGRAMA DE TEORÍAS y TRABAJOS PRÁCTICOS

CLASES TEÓRICAS: **Miércoles 10-12** (Anfiteatro 3) y **Viernes 11-13** (Anfiteatro 1)  
TRABAJOS PRÁCTICOS DE AULA: **Martes 8-10** Comisión A: AULA 43 (Bloque I)  
Comisión B: AULA 36 (Bloque I)  
**Martes 14-16hs** Comisión C: AULA 6 (Chac y

Pedernera)

**AGOSTO**

MIÉRCOLES 9	BIOQUÍMICA DE LA NUTRICIÓN- ENZIMAS
VIERNES 11	ENZIMAS
MARTES 15	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N°1: Enzimas</b>
MIÉRCOLES 16	CADENA RESPIRATORIA I
VIERNES 18	CADENA RESPIRATORIA II
MARTES 22	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N° 2: Cadena Respiratoria</b>
MIÉRCOLES 23	HORMONAS: GENERALIDADES. METABOLISMO: VÍAS METABÓLICAS. <b>CONSULTA PRIMER PARCIAL</b>
VIERNES 25	<b>FERIADO</b>
MARTES 29	<b>PRIMER PARCIAL: ENZIMAS Y CADENA RESPIRATORIA</b>
MIÉRCOLES 30	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: DIGESTIÓN Y ABSORCIÓN

**SEPTIEMBRE**

VIERNES 1	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: VÍA GLICOLÍTICA.
MARTES 5	
MIÉRCOLES 6	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: VÍA GLICOLÍTICA. SISTEMAS DE LANZADERA.
VIERNES 8 CICLO	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: DE KREBS
MARTES 12 <b>Glicolítica.</b>	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N°3: Vía Ciclo de Krebs.</b>
MIÉRCOLES 13	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: METABOLISMO DE GLUCÓGENO
VIERNES 15	METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO: GLUCONEOGENESIS- VÍA DE LAS PENTOSAS.
MARTES 19	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N° 4: Metabolismo de Glucógeno. Vía de las Pentosas. Gluconeogénesis.</b>

MIÉRCOLES 20	METABOLISMO DE LÍPIDOS I
VIERNES 22	METABOLISMO DE LÍPIDOS II. <b>CONSULTA 2° PARCIAL</b>
MARTES 26	<b>SEGUNDO PARCIAL: METABOLISMO DE HIDRATOS DE CARBONO</b>
MIÉRCOLES 27	METABOLISMO DE LÍPIDOS III
VIERNES 29	METABOLISMO DE LÍPIDOS IV
<b>OCTUBRE</b>	
MARTES 3	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N° 5: Metabolismo de Lípidos: Lipoproteínas. Degradación de Ácidos Grasos.</b>
MIÉRCOLES 4	METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS I
VIERNES 6	METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS II
MARTES 10	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N° 6: Metabolismo de Lípidos: Biosíntesis de Ácidos Grasos y Colesterol</b>
MIÉRCOLES 11	METABOLISMO DE NUCLEÓTIDOS
VIERNES 13	ÁCIDOS NUCLEICOS <b>CONSULTA 3° PARCIAL</b>
MARTES 17	<b>TERCER PARCIAL: METABOLISMO DE LÍPIDOS</b>
MIÉRCOLES 18	ÁCIDOS NUCLEICOS
VIERNES 20	METABOLISMO DE HEMO. HORMONAS
MARTES 24	<b>TRABAJO PRÁCTICO DE AULA N° 7: Metabolismo de Aminoácidos</b>
MIÉRCOLES 25	INTEGRACIÓN METABÓLICA
VIERNES 27	INTEGRACIÓN METABÓLICA CONSULTA 4°
PARCIAL	
<b>NOVIEMBRE</b>	
MARTES 31	<b>CUARTO PARCIAL: METABOLISMO DE AMINOÁCIDOS</b>
VIERNES 3	1° FECHA DE RECUPERACIÓN
MARTES 7	2° FECHA DE RECUPERACIÓN
VIERNES 10	3° FECHA DE RECUPERACIÓN
MARTES 14	4° FECHA DE RECUPERACIÓN
MIÉRCOLES 15	5° FECHA DE RECUPERACIÓN
VIERNES 17	6° FECHA DE RECUPERACIÓN
MARTES 21	7° FECHA DE RECUPERACIÓN
MIÉRCOLES 22	8° FECHA DE RECUPERACIÓN

## TRABAJO PRÁCTICO N°1

### ENZIMAS: CARACTERES GENERALES. FACTORES QUE AFECTAN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA. ENZIMAS REGULADORAS.

#### OBJETIVOS

- ✚ Describir las propiedades generales de las enzimas.
- ✚ Comprender la clasificación de enzimas y la cinética enzimática.
- ✚ Diferenciar los mecanismos de regulación de la actividad enzimática.
- ✚ Interpretar la acción de distintos tipos de inhibidores

#### ENZIMAS

En los seres vivos se producen constantemente reacciones químicas. La mayoría tiende a transformar los nutrientes de los alimentos para obtener energía o para obtener materia prima para la síntesis de nuevas moléculas. También se producen reacciones químicas en las que se degradan componentes celulares una vez cumplida su vida útil.

Estas transformaciones bioquímicas ocurren en los seres vivos a gran velocidad y con gran especificidad en condiciones moderadas de temperatura, pH, presión, etc. Los organismos homeotermos tienen una temperatura de 37°C, los organismos poiquilotermos tienen una temperatura corporal igual a la temperatura ambiente. Gran parte de estas reacciones ocurrirían muy lentamente o no se producirían si no existieran **catalizadores**.

Un catalizador es una sustancia capaz de acelerar una reacción química sin formar parte de los productos finales ni desgastarse en el proceso. En los medios biológicos los catalizadores son macromoléculas llamadas **enzimas**.

#### Naturaleza Química de las Enzimas

La mayoría de las enzimas son **proteínas**, con la excepción de un pequeño grupo de moléculas de RNA catalítico, llamadas **ribozimas**.

La actividad catalítica depende de la integridad de su conformación proteica nativa. Si se desnaturaliza o disocia una enzima en las subunidades que la conforman, se

pierde la actividad catalítica. Las estructuras primaria, secundaria, terciaria y/o cuaternaria son esenciales para su actividad.

## NOMENCLATURA Y CLASIFICACIÓN DE ENZIMAS

**Nombre común:** nombre de uso cotidiano.

Las enzimas se designan agregando el sufijo **asa** al nombre del sustrato de la reacción.

Ej: sacarasa, ureasa, amilasa, etc.

**Nombres arbitrarios:** Ej: ptialina salival, pepsina del jugo gástrico, etc.

**Nombres según el tipo de reacción catalizada:** Ej: deshidrogenasas, carboxilasas, etc.

**Nombre sistemático:** La Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB) estableció un sistema de clasificación. Se asigna a cada enzima un nombre descriptivo y un número que permite identificarla inequívocamente. Ej. *Lactato deshidrogenasa*: Clase: **1** (oxidoreductasa), Subclase: **1** (deshidrogenasa), subsubclase: **1** (utiliza NAD como coenzima) n° de orden: **27**

### Clasificación

N° DE CLASE	CLASE DE ENZIMA	REACCIÓN QUE CATALIZA	Ejemplos
1	Oxidoreductasas	Reacciones de óxido-reducción	<i>Lactato deshidrogenasa</i>
2	Transferasas	La transferencia de un grupo de átomos, como amina, carboxilo, carbonilo, metilo, fosforilo, desde un sustrato considerado donante, a otro compuesto aceptor	<i>Aminotransferasas</i>
3	Hidrolasas	La ruptura de enlaces C-O, C-N, C-S y O-P por adición de agua	<i>Fosfatasas, disacaridasas</i>
4	Liasas	La ruptura de uniones C-C, C-S y C-N de la molécula de sustrato, por un proceso distinto al de hidrólisis	<i>Aldolasa</i>
5	Isomerasas	La interconversión de isómeros ópticos, geométricos o de posición	<i>Fosfotriosa isomerasa</i>
6	Ligasas o sintetetasas	La formación de enlaces entre C y O, S y N acoplada a la hidrólisis de fosfatos de alta energía.	<i>Piruvato carboxilasa</i>

**Tabla 1.1:** Clasificación de las enzimas según la reacción catalizada.

## CARACTERÍSTICAS DE LAS ENZIMAS

Si una enzima E cataliza la transformación del sustrato S en producto P, el sustrato se une a la enzima para formar el complejo ES, el cual luego se disocia en enzima y producto. El proceso puede representarse con la ecuación:



Fig 1.1 Esquema de una reacción catalizada por una enzima

### Sitio Activo

Las enzimas poseen un lugar definido al cual se une el sustrato por uniones no covalentes (puente de hidrógeno, hidrofóbicas, electrostáticas). Esta región de la molécula se denomina **sitio activo**, **centro activo**, **sitio catalítico** o **lugar de sustrato**.

El **sitio activo** contiene cadenas laterales de aminoácidos que crean una superficie tridimensional complementaria con el sustrato.

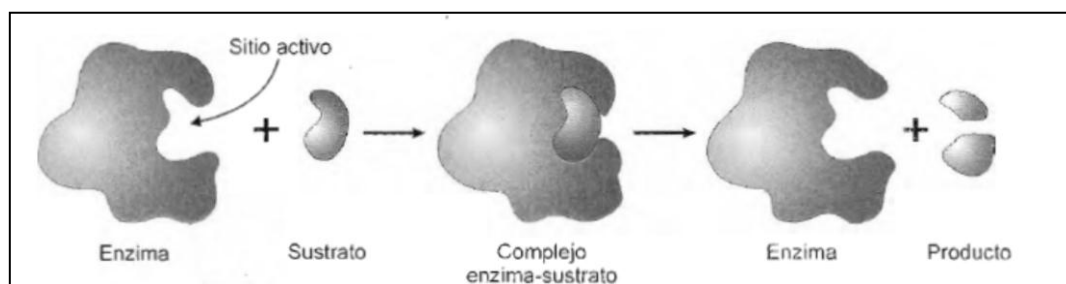


Fig. 1.2. Representación esquemática de una reacción enzimática. Blanco. Química Biológica. 7ª Edición

### Especificidad

Las enzimas pueden actuar sobre un único sustrato, en cuyo caso se habla de enzimas altamente específicas, ej.: enzima *Lactato deshidrogenasa (LDH)* cuyo único sustrato es el lactato o pueden tener una especificidad relativa, es decir actúan sobre un grupo de sustratos relacionados, ejemplo: *Hexoquinasa* que cataliza la transformación de hexosas (glucosa, manosa y fructosa), la enzima presenta distinta afinidad para cada uno de sus sustratos.

### Cofactores

Muchas enzimas solo pueden realizar su función catalítica en asociación con otro componente químico llamado **cofactor**. El cofactor puede ser uno o varios iones

inorgánicos tales como  $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Mn}^{2+}$  o  $\text{Zn}^{2+}$ . El cofactor también puede ser una molécula orgánica no proteica de tamaño relativamente pequeño, denominada **coenzima**.

Una coenzima unida covalentemente o por otro tipo de enlace fuerte a la proteína enzimática se denomina **grupo prostético**. Las dos porciones, proteica y no proteica, son indispensables para la actividad enzimática. La especificidad de la **Holoenzima** depende de la **Apoenzima**.

<i>HOLOENZIMA</i> Enzima Total	=	<i>APOENZIMA</i> Proteína	+	<i>COENZIMA</i> No proteica
-----------------------------------	---	------------------------------	---	--------------------------------

**Fig. 1.3:** Representación de los componentes de una enzima.  
Blanco. Química Biológica. 8º Edición

Las coenzimas experimentan cambios en la reacción que compensan las transformaciones sufridas por el sustrato. Pueden actuar como transportadores transitorios de grupos funcionales específicos o transportadores de electrones. La mayoría de las coenzimas son derivados de las vitaminas. Ejemplos: Biotina, Tiamina y Fosfato de Piridoxal participan de reacciones enzimáticas transportando grupos funcionales mientras que NAD (Nicotinamida adenina dinucleótido) y FAD (Flavina adenina dinucleótido) son transportadores de electrones y protones.

### Sistemas Multienzimáticos y Enzimas Multifuncionales

Los **sistemas multienzimáticos** son complejos formados por varias enzimas diferentes cuyas acciones se complementan. Están ordenados de modo que el producto de la reacción catalizada por la primera enzima es recibido como sustrato por la segunda y así sucesivamente. Las transformaciones se producen según la secuencia establecida por la disposición espacial de los catalizadores. Ej: Cadena Respiratoria.

Además de estos sistemas multienzimáticos, existen **enzimas multifuncionales**, en este caso una misma proteína presenta varios sitios catalíticos distintos en su cadena polipeptídica y cada uno de ellos cataliza diferentes reacciones enzimáticas. Ej: *Ácido Graso Sintasa*.

## DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

En muchos casos es importante saber si la actividad de una enzima, generalmente clave para el funcionamiento normal de una determinada vía metabólica, es normal, o está disminuida o aumentada, para ello se utilizan métodos para evaluar la velocidad de la reacción que catalizan.

La velocidad de una reacción enzimática puede determinarse midiendo la cantidad de **producto formado**, o de **sustrato consumido**, en un **tiempo** dado, en una mezcla que contenga todos los factores requeridos para la reacción.

La cantidad de enzima se indica generalmente como **unidades internacionales** (UI). Una unidad internacional de cualquier **enzima** es la cantidad de enzima que cataliza la transformación de un micromol de sustrato por minuto, bajo condiciones definidas de pH y temperatura, ( $1\mu\text{mol} = 10^{-6}\text{ mol}$ ).

$$\text{Unidad de enzima} = \frac{\mu\text{mol de Sustrato Transformado}}{\text{Minuto}}$$

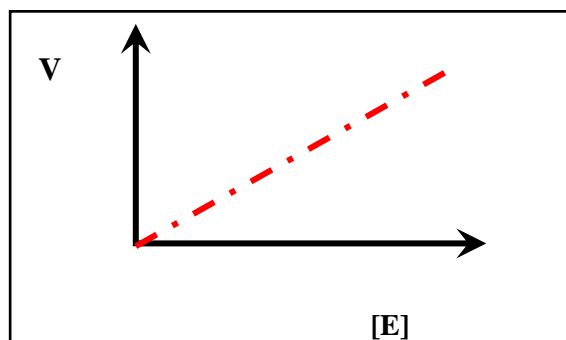
La cantidad de enzima presente en un volumen de muestra se expresa en unidades internacionales de enzima por ml. (UI/ml).

## FACTORES QUE AFECTAN LA VELOCIDAD DE REACCIÓN ENZIMÁTICA

Existen diferentes factores que pueden afectar la velocidad de una reacción enzimática, los cuales deben ser considerados cuando se trabaje con enzimas, por ejemplo: durante el procesamiento o la conservación de los alimentos, cuando se realiza un estudio de investigación o en el laboratorio de Bioquímica Clínica. Dentro de estos factores se encuentran: concentración de la enzima y concentración del sustrato, condiciones de trabajo como pH y temperatura, actividad de agua, fuerzas mecánicas y fuerzas iónicas. A continuación se desarrollan los más importantes.

### Concentración de enzima

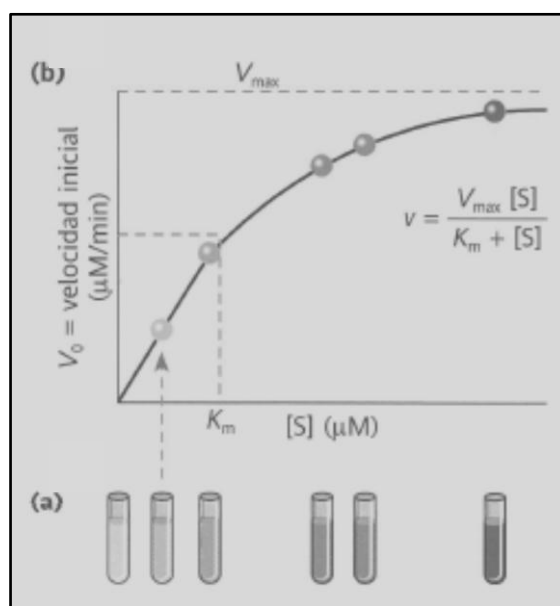
La velocidad de una reacción catalizada por una enzima es directamente proporcional a la concentración de la enzima, en presencia de cantidades saturantes de sustrato y manteniendo constantes todos los otros factores en el medio de reacción. Por ejemplo: Si se aumenta el doble la concentración de enzima se duplica la velocidad de la reacción (Fig. 1.4).



**Fig 1.4:** Efecto de la concentración de enzima sobre la velocidad de reacción. Blanco. Química Biológica. 8° Edición

### Concentración del Sustrato

Si se mide la actividad de una enzima a diferentes concentraciones de sustrato, se puede observar que al aumentar la [S] la velocidad de la reacción aumenta tendiendo a alcanzar un valor máximo, que refleja la saturación con el sustrato de todos los sitios de fijación disponibles en las moléculas de enzimas existentes (Fig. 1.5).



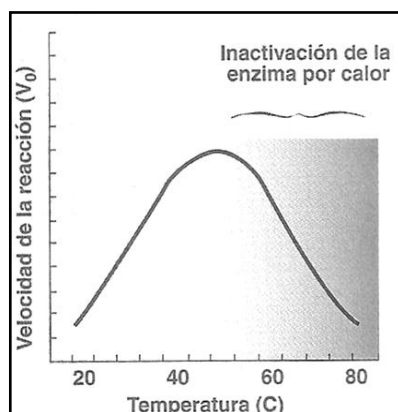
**Fig 1.5:** Efecto de la concentración de sustrato sobre la velocidad inicial de una reacción catalizada por una enzima.  $V_0$ : velocidad inicial.  $K_m$ : constante de Michaelis-Menten.  $V_{m\acute{a}x}$ : velocidad máxima. [S]: concentración de sustrato. Feduchi, Blasco, Romero, Yáñez. "Bioquímica. Conceptos esenciales". 1° Ed.

La figura se corresponde con una curva hiperbólica que responde a la Ecuación de Michaelis-Menten (M-M), sobre la misma se representa el valor de  $K_m$  (constante de M-M) que es característico de una enzima y su sustrato particular, refleja la afinidad de

la enzima por el sustrato. La  $K_m$  es numéricamente igual a la concentración del sustrato que corresponde a una velocidad de reacción igual a la mitad de la velocidad máxima. De lo dicho se desprende que el valor de  $K_m$  tiene unidades de concentración, expresándose generalmente como molar (M) o milimolar (mM).

## Temperatura

Cuando aumenta la temperatura se produce un incremento en la energía cinética de las moléculas y esto provoca un aumento en la velocidad de la reacción química. Existe una temperatura o rango de temperaturas donde la actividad enzimática es máxima, considerándose a ésta como “temperatura óptima” de la reacción enzimática. Para la gran mayoría de las enzimas de los homeotermos, la temperatura óptima está alrededor de los 37 °C. Este efecto puede representarse gráficamente (Fig 1.6), observándose que cuando la temperatura es muy elevada la proteína enzimática se desnaturaliza y la velocidad de la reacción desciende paulatinamente hasta alcanzar un valor cero, cuando todas las moléculas de enzimas presentes pierden su estructura activa.

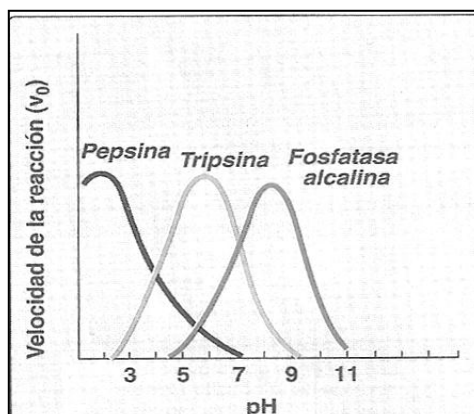


**Fig 1.6:** Efecto de la temperatura sobre una reacción catalizada por una enzima. Harvey, Champe, Ferrier. Bioquímica. 3ª Edición

## Efecto del pH

Las variaciones de pH afectan el estado ionizado o no ionizado de los grupos químicos de la enzima y del sustrato que participan en el proceso catalítico, esto afectará la velocidad de la reacción enzimática. Los pH extremos pueden dar como resultado la desnaturalización de la proteína enzimática. Si se mide la actividad enzimática a diferentes valores de pH, manteniendo constantes todos los otros factores, se puede determinar el pH óptimo de la enzima en estudio, la mayoría de las enzimas

que se encuentran en las células del cuerpo humano tienen una actividad óptima entre valores de pH 6 y 8.



**Fig 1.7:** Efecto del pH sobre las reacciones catalizadas por una enzima. Harvey, Champe, Ferrier. Bioquímica. 3ª Edición

Al pH óptimo se logra la máxima actividad enzimática, este pH varía para las diferentes enzimas, refleja la concentración de iones hidrógeno en las células de los diferentes tejidos u órganos en que la enzima funciona. Por ejemplo, enzimas presentes en estómago actúan a pH 2 (pepsina) y enzimas que se encuentran en duodeno (tripsina) donde el pH del medio es ligeramente alcalino, su pH óptimo es cercano a 8,0.

## INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Cualquier sustancia que pueda disminuir la velocidad de una reacción catalizada por una enzima se denomina **inhibidor**. Se los clasifica en forma general, de acuerdo al efecto que causan sobre la reacción, en **irreversibles** y **reversibles** o según su mecanismo de acción en **competitivos** y **no competitivos**.

### Inhibidores Irreversibles

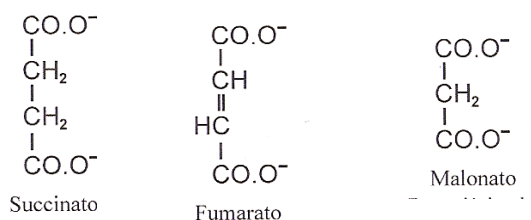
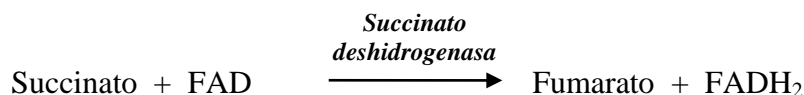
Son todas aquellas sustancias que producen un *cambio permanente* en la molécula de enzima. Producen un deterioro definitivo de su capacidad catalítica. Ej: insecticidas organofosforados, estos inhibidores producen inhibición irreversible de la enzima *Acetilcolinesterasa* (enzima del sistema nervioso).

### Inhibidores Reversibles

Son considerados inhibidores reversibles a aquellas sustancias que producen un *cambio de la capacidad catalítica de la enzima* pero su acción *no es permanente*, el inhibidor (I) forma un complejo con la enzima (**EI**) que se disocia rápidamente.

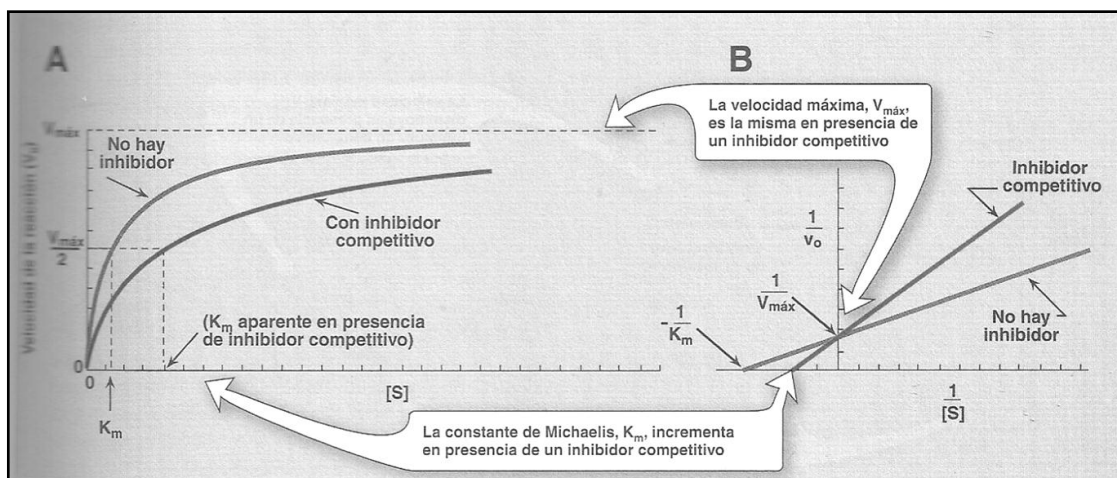
Estudiaremos dos tipos de inhibición reversible: La inhibición competitiva y la no competitiva.

**Inhibidores competitivos:** presentan similitud estructural con el sustrato, compiten por el sitio activo de la enzima. Esta situación puede revertirse aumentando la concentración de sustrato. Ejemplo: inhibición competitiva por malonato de la *Succinato deshidrogenasa*, malonato presenta similitud estructural con succinato.



Aumentan el valor de  $K_m$ , pero no modifican la velocidad máxima de la enzima. El valor de  $K_m$  aumenta porque al unirse el inhibidor disminuye la afinidad de la enzima por el sustrato. Esta situación puede revertirse aumentando la concentración de sustrato.

Las reacciones que ocurren en presencia de un inhibidor competitivo pueden representarse del siguiente modo:

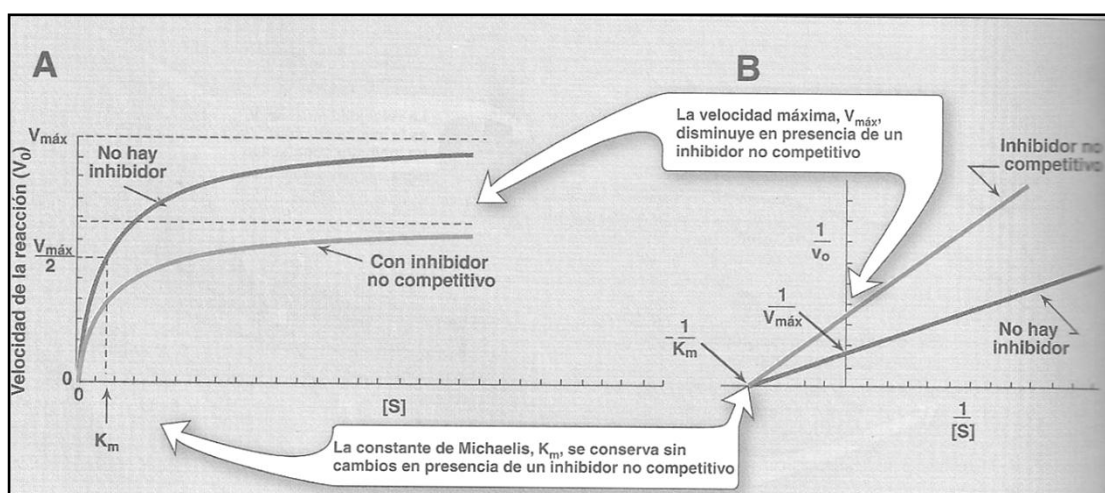


**FFig 1.8.** Cinética enzimática en presencia de inhibidor competitivo. A: representación decimal. B: representación logarítmica. Harvey, Champe, Ferrier. Bioquímica. 3ª Edición

**Inhibidores no competitivos:** Son compuestos que se unen a la enzima en un lugar de la molécula diferente del sitio activo. Estos inhibidores reversibles se unen a grupos sulfhidrilos indispensables para la actividad de algunas enzimas. Por ejemplo: iones metálicos como el plomo, mercurio, etc. La unión del ión metálico provoca cambios conformacionales que inactivan la enzima. El inhibidor se une a la enzima en un lugar de la molécula diferente del sitio activo, y disminuye la velocidad máxima sin modificar la constante de Michaelis ( $K_m$ ), pues el sustrato reacciona con la enzima lo mismo que en ausencia del inhibidor. Este tipo de inhibición no es revertida por aumento de la concentración de sustrato.

La intoxicación por plomo es la más común de las exposiciones a metales. El plomo es utilizado en la industria con distintos fines (cubierta de cables, plásticos de polivinilo, insecticidas, etc.). Las fuentes más frecuentes donde se obtiene este metal son de minerales presentes en las minas y del reciclado de materiales conteniendo plomo. Este metal es absorbido por pulmones y a nivel del tracto gastrointestinal. Actúa como inhibidor no competitivo, siendo su mecanismo de acción la unión a grupos sulfhidrilo de enzimas que poseen cisteína o metionina en su centro activo, resultando tóxico para las mismas. El paciente debe ser alejado de la fuente de exposición y tratado con sustancias quelantes que inactivan los metales por formación de moléculas complejas atóxicas, fáciles de excretar.

Las reacciones que ocurren en presencia de un inhibidor competitivo pueden representarse del siguiente modo:



**Fig 1.9.** Cinética enzimática en presencia de inhibidor no competitivo. A. representación decimal. B: representación logarítmica. Harvey, Champe, Ferrier. Bioquímica. 3ª Edición.

## REGULACIÓN DE LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

La regulación de la actividad de las enzimas permite que el organismo pueda coordinar sus numerosos procesos metabólicos. Las transformaciones de sustrato se producen, generalmente, en etapas sucesivas catalizadas por enzimas diferentes. En estas secuencias existen una o más enzimas que actúan como reguladoras del flujo de sustratos y productos ajustándolo a las necesidades de la célula.

Existen varios mecanismos de regulación de las reacciones enzimáticas:

a) Los que modifican la actividad de las enzimas:

**a.1** *Enzimas alostéricas*

**a.2** *Enzimas reguladas por modificación covalente*

**a.3** *Enzimas reguladas por modificación proteolítica: Zimógenos*

**a.4** *Enzimas reguladas por compartimentalización celular:*

*Isoenzimas*

b) Los que regulan la cantidad de enzima presente:

**b.1** *Inducción o Represión de la síntesis de enzimas.*

**b.2** *Degradación proteolítica de la proteína enzimática.*

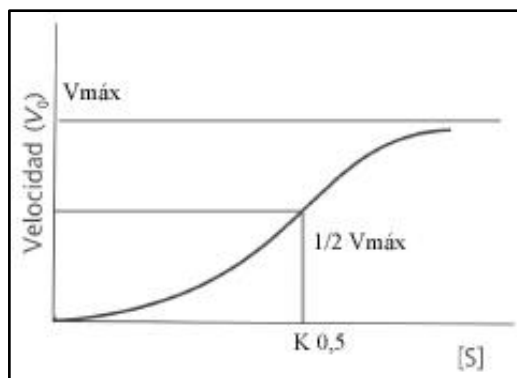
### **a.1 Enzimas Alostéricas:** (modificación enzimática *inmediata*)

Las enzimas alostéricas están constituidas por **varias subunidades polipeptídicas** entre las cuales existe algún tipo de interacción. Estas enzimas poseen, además de sitios catalíticos, **sitios reguladores** a los cuales se unen específicamente moléculas que ejercen acción activadora o inhibidora sobre su actividad, estos agentes se llaman **moduladores, modificadores o efectores alostéricos** (positivos o negativos). Si un modulador positivo se une a ellas produce un cambio de conformación que se transmite a las otras subunidades de tal forma que favorece la unión del sustrato al sitio activo; si el modulador es negativo impide la unión del sustrato al sitio activo.

Cuando se analiza la actividad de enzimas frente a concentraciones crecientes de sustrato, generalmente se obtiene una *curva hiperbólica*, esta es la cinética enzimática clásica pero no es la correspondiente a enzimas alostéricas. Con ellas se obtiene una *curva sigmoide*, ya que la fijación de una molécula de sustrato en el sitio activo de la enzima incrementa las propiedades catalíticas de los otros sitios de fijación del sustrato,

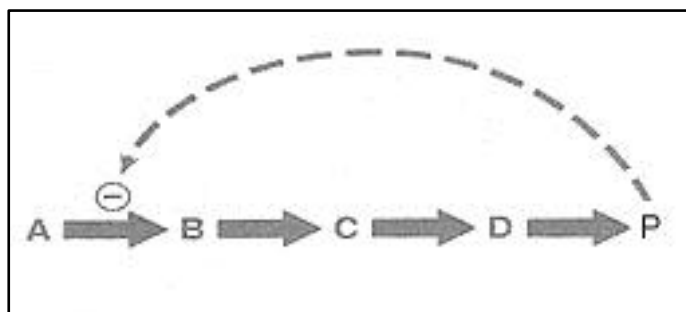
es decir, los sitios en los que se fijan manifiestan cooperatividad, de manera semejante a la curva de saturación de hemoglobina con oxígeno.

En la curva sigmoidea podemos encontrar un valor de  $[S]$  a la que  $V_0$  es la mitad de la  $V_{\text{máx}}$  pero no nos podemos referir al mismo con la designación  $K_m$  ya que la enzima no sigue la relación hiperbólica de Michaelis-Menten. En su lugar se utilizan los símbolos  $[S_{0,5}]$  o  $K_{0,5}$  para representar la constante de afinidad de la enzima alostérica por su sustrato.



**Fig 1.10** Curva sigmoidea de actividad en función de concentración de sustrato de una enzima alostérica. Modificado desde Feduci, Blasco, Romero, Yáñez, "Bioquímica. Conceptos esenciales".

En algunas vías metabólicas, la enzima que cataliza la primera etapa de la serie suele ser inhibida por el producto de la última. Cuando la concentración de ese producto final aumenta, ello indica que su síntesis excede las necesidades de la célula y se frena el funcionamiento de la vía reduciendo la actividad de la enzima reguladora. En este caso se habla de **regulación por retroinhibición** (Fig 1.11). En la imagen se muestra como el producto "P" de una vía metabólica inhibe la enzima que cataliza la primera reacción de la vía, conversión del sustrato "A" en el intermediario "B". En este caso la enzima que cataliza la primera reacción es una enzima alostérica.



**Fig 1.11** Inhibición por retroalimentación de una vía metabólica. Harvey, Champe, Ferrier. Bioquímica. 3° Edición

### a.2 Enzimas reguladas por modificación covalente: (modificación enzimática inmediata o minutos)

Algunas enzimas son reguladas por adición o remoción de grupos químicos (fosfatos, AMP, etc.), la unión covalente de los mismos a la estructura proteica de la enzima lleva a la denominación de “enzimas reguladas por modificación covalente”. Con mayor frecuencia el grupo es un fosfato añadido o removido sobre residuos de los aminoácidos Serina, Treonina o Tirosina específicos de la proteína enzimática. Las reacciones de fosforilación son catalizadas por una familia de enzimas llamadas *quinasas de proteínas*, las cuales utilizan como dador del grupo fosfato al **ATP**. Los grupos fosfatos se separan de las enzimas fosforiladas por la acción de enzimas llamadas *fosfatasas de proteínas*. Las reacciones de fosforilación y desfosforilación se representan en la figura 1.12.

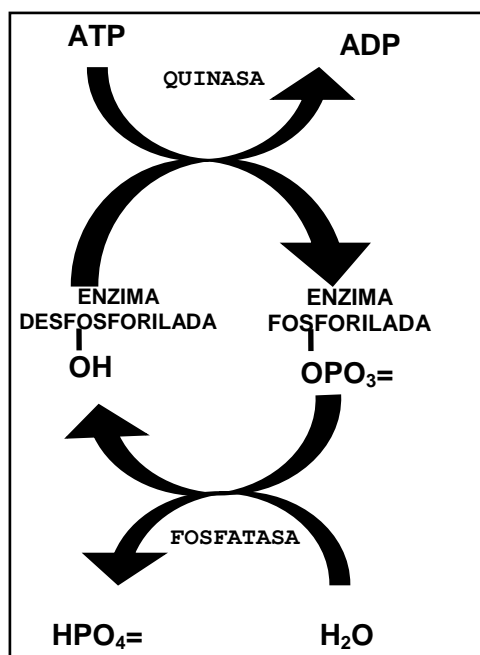


Fig 1.12. Esquema de regulación por modificación covalente de una enzima

### a.3 Enzimas reguladas por modificación proteolítica: Zimógenos

Algunas enzimas se sintetizan en la célula al estado de precursores inactivos llamados zimógenos, proenzimas o preenzimas. En la mayoría de los casos estos precursores son proteínas simples que, fuera de la célula se convierten en enzima activa por un proceso de hidrólisis.

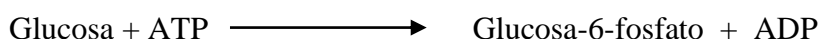
Son zimógenos algunos componentes de los jugos digestivos: pepsinógeno producido por las glándulas principales del estómago y tripsinógeno producido en el páncreas, al

llegar a la luz del tracto gastrointestinal estos zimógenos se convierten en enzimas activas, pepsina y tripsina, por eliminación de una secuencia de varios aminoácidos o cadena peptídica del extremo terminal de la proteína.

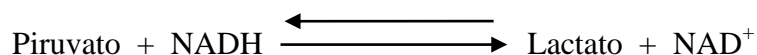
#### a.4 Enzimas reguladas por compartimentalización celular: Isoenzimas

Las isoenzimas, son proteínas diferentes (diferentes estructuras aminoacídicas ) que catalizan la misma reacción enzimática, poseen distinto peso molecular y/o carga iónica, diferencias que permiten separarlas por electroforesis en gel. Las isoenzimas actúan sobre el mismo sustrato, pero tienen **diferente especificidad y diferente afinidad**. Por ejemplo: *hexoquinasa* y *glucoquinasa*, ambas fosforilan glucosa en el hidroxilo del carbono seis pero su **especificidad** es diferente: *Glucoquinasa* actúa solamente sobre glucosa mientras que la *hexoquinasa* actúa sobre todas las hexosas (glucosa, fructosa, manosa). Además presentan distinta afinidad, la *hexoquinasa*, cuando el sustrato es glucosa, tiene un Km diez veces menor que el Km de la *glucoquinasa* por lo que presenta mayor afinidad por glucosa que esta última. Cuando la concentración de glucosa en sangre es baja solo actúa la *hexoquinasa* mientras que cuando es elevada, por ejemplo luego de una comida, actúan ambas: *hexoquinasa* y *glucoquinasa*.

La reacción que catalizan *hexoquinasa* y *glucoquinasa* es la siguiente:



Una de las isoenzimas mejor estudiadas es la *Lactato deshidrogenasa*, que presenta cinco isoenzimas cada una de las cuales tiene una composición aminoacídica diferente. El sustrato de la misma es el piruvato o el lactato. La reacción que catalizan es la siguiente:



La distribución relativa de la actividad enzimática entre las cinco formas es característica para cada tejido (cardíaco, muscular, renal, hepático, esplénico, etc), dependiendo de la función del mismo.

Algunas enzimas presentan isoenzimas con diferente ubicación intracelular. Por ejemplo: *Malato deshidrogenasa* posee una isoenzima libre en el citosol y otra asociada a mitocondrias.

**b.1 Inducción y represión de la síntesis enzimática:** (modificación mediata, en *horas o días*)

Los mecanismos descriptos hasta aquí, modifican la actividad de enzimas existentes. Sin embargo, hay otros mecanismos de regulación que implican la inducción o la represión de la síntesis de proteínas enzimáticas. La inducción de la síntesis resulta en un aumento de la cantidad de enzima presente en la célula, por lo que a estas enzimas se las suele denominar “inducibles”. Por otro lado, a través de mecanismos de represión, la célula inhibe la síntesis de enzima. La síntesis enzimática aumentada (inducción) o su represión, tiene como consecuencia cambios en la cantidad de sitios activos. Ejemplo: los niveles elevados de insulina como resultado de las concentraciones aumentadas de glucosa en sangre, producen un incremento de la síntesis de enzimas claves que participan en el metabolismo de glucosa, lo que permite aumentar el ingreso de este azúcar a la célula y activar la vía de degradación.

<b>UNA ENZIMA PUEDE RESPONDER A MÁS DE UN TIPO DE REGULACIÓN</b>
--

**BIBLIOGRAFÍA**

- BLANCO, A., "Química Biológica", Ed. El Ateneo, 8° Edición, Bs.As, 2006. Reimpresión año 2007
- CHAMPE, HARVEY, FERRIER, "Bioquímica", Ed Mac Graw- Hill Interamericana, 3° Edición. 2006
- LEHNINGER, A.L., NELSON, D., COX, M., "Principios de Bioquímica", Editorial Omega, S.A., 4° Ed., 2006. Reimpresión año 2008.
- STRYER, L., "Bioquímica", Ed. Reverté, 7° Edición, 2013.
- FEDUCHI, BLASCO, ROMERO, YÁÑEZ, "Bioquímica. Conceptos esenciales", Editorial Médica Panamericana, 2010.

# PROBLEMAS DE APLICACIÓN

**TRABAJO PRÁCTICO N°1**  
**ENZIMAS: CARACTERES GENERALES. FACTORES QUE AFECTAN LA**  
**ACTIVIDAD ENZIMÁTICA. ENZIMAS REGULADORAS.**

**PROBLEMAS DE APLICACIÓN**

1. Explique qué tipo de reacción catalizan las siguientes enzimas y esquematice una reacción como ejemplo para cada una. Clasifique la enzima según las seis clases citadas por la Comisión de Enzimas de la IUBMB

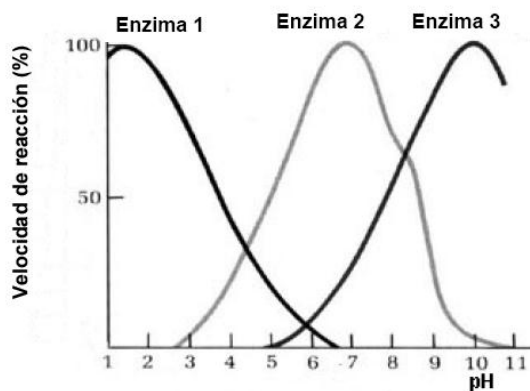
- a) Quinasas
- b) Hidrolasas
- c) Descarboxilasas
- d) Deshidrogenasas
- e) Isomerasas
- f) Carboxilasas

2. En el siguiente gráfico, se muestran los pH óptimos de tres enzimas, de acuerdo a estos valores indique cuál de estas proteínas sería activa a nivel de:

Estómago .....

Intestino delgado .....

Plasma sanguíneo .....

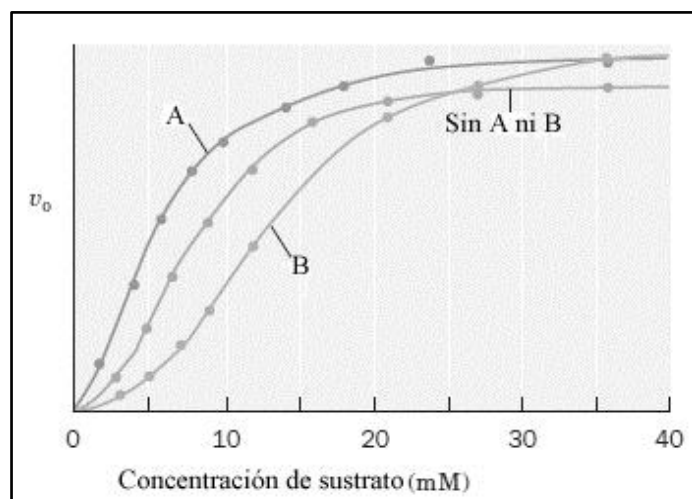


3. A partir de los siguientes datos correspondientes a una reacción enzimática, determinar:

- a) ¿Cuáles son los valores de  $K_m$  y  $V_{\max}$  en ausencia o presencia del inhibidor?  
b) ¿De qué tipo de inhibición se trata?

Concentración de S (mM)	VELOCIDAD ( $\mu\text{mol/min}$ )	
	Sin inhibidor	Con inhibidor 50 mM
1	0,45	0,2
2	0,80	0,4
3	1,70	0,7
4	2,9	1,0
5	3,4	1,4
7	4,3	2,9
10	5,3	4,2
12	5,6	4,8
15	5,8	5,0
17	5,8	5,5
19	5,8	5,8

4. Considerando la siguiente gráfica y teniendo en cuenta que A y B son sustancias que interactúan con una enzima E, ¿qué tipo de enzima es E?, ¿qué función desempeñan A y B?



5. La enzima *hexoquinasa* cataliza la fosforilación de glucosa en glucosa-6-P, lo cual es importante fisiológicamente debido a la generación de un gradiente que favorece el ingreso de glucosa al interior de las células. Además, glucosa-6-P formada no puede atravesar las membranas plasmáticas, quedando disponible para las necesidades de la célula. La *hexoquinasa* presenta cuatro isoenzimas (I, II, III y IV). La isoenzima IV (glucoquinasa) se encuentra en hígado y células beta del páncreas, posee un  $K_m$  muy elevado (10 mM), por lo cual tiene baja afinidad por la glucosa. Explique la función fisiológica de esta enzima.

### PROBLEMAS PROPUESTOS

1. ¿Qué ventaja tiene para el organismo que algunas enzimas se sinteticen como zimógenos?
2. Usted está tratando de determinar la  $K_m$  para una enzima. Debido a un contratiempo en el laboratorio, tiene solamente dos datos utilizables:

Concentración de sustrato ( $\mu\text{M}$ )	Velocidad de la reacción ( $\mu\text{M} \cdot \text{s}^{-1}$ )
1	5
100	50

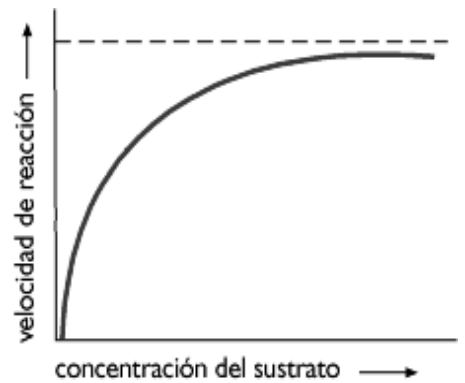
Utilice estos datos para calcular un valor aproximado de  $K_m$

3. Sobre la base de mediciones experimentales preliminares, usted sospecha que una muestra de enzima contiene un inhibidor irreversible. Usted decide diluir la muestra 100 veces y volver a medir la actividad enzimática. ¿Qué mostrarían sus resultados?
4. Realice un cuadro sobre los distintos mecanismos de regulación e indique cuál de ellos puede ser mediato e inmediato.
5. Esta gráfica representa la variación de la velocidad de reacción frente a la concentración del sustrato; indique cuál de los enunciados que abajo se detallan



explican por qué la curva alcanza una meseta y la velocidad no sigue aumentando para mayores concentraciones de sustrato.

- a) Hay un inhibidor competitivo presente
- b) Hay un inhibidor no competitivo presente
- c) La enzima alostérica está bloqueada en una conformación inactiva
- d) A  $V_{\text{máx}}$  todos los sitios catalíticos de la enzima están ocupados por el sustrato.



-----